

ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK DAUN YODIUM (*Jatropha multifida* L.) DENGAN METODE CUPRIC ION REDUCING ANTIOXIDANT CAPACITY (CUPRAC)

St. Maryam^{*)}, Randi Pratama^{*)}, Nurmaya Effendi^{*)}, Tadjuddin Naid^{*)}

^{*)} Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Email: st.maryam_ap@yahoo.com

ABSTRACT

*The research had been conducted about the analysis of antioxidant activity of yodium (*Jatropha multifida* L.) leaves using cupric ion reducing antioxidant capacity to determine the existance of antioxidant activity and to measure the antioxidant capacity in yodium (*Jatropha multifida* L.) leaves ethanolic extract using CUPRAC method. It was experimental research using CUPRAC method to prove the existance of antioxidant activity of yodium (*Jatropha multifida* L.) leaves. It was started by extracting the leaves using maseration using ethanol 96% solvent. The resulted extracts were analyzed quantitatively and qualitatively by adding CuCl₂ solution, neocuproin, NH₄Ac buffer system which were measured in UV-Visible spectrophotometer and analyzed at a wavelength of 450 nm. Based on data analysis, it was found that the askorbat acid equivalent (AAE) presentage of yodium (*Jatropha multifida* L.) leaves was 0.7385 ± 0.0521 mg L⁻¹ AA g⁻¹ extract.*

Keywords : Antioxidant activity, Yodium (*Jatropha multifida* L.), cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC)

I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih, maka tubuh membutuhkan antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat potensial untuk dikembangkan. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan senyawa oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksida lipid pada makanan (Winarsi, 2007). Salah satu tumbuhan obat yang ada di Indonesia adalah daun yodium (*Jatropha multifida* L.). Setelah dilakukan uji fitokimia yodium (*Jatropha multifida* L.) memiliki kandungan kimia berupa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin. Sedangkan khasiat yang

terkandung dalam yodium (*Jatropha multifida* L.) antara lain, getah dan daunnya dapat dipakai sebagai obat luka baru (Depkes, 2000). Pada pengujian CUPRAC (Cupric ion reducing antioxidant capacity), reagen Cu(II)-neocuproin (Cu(II)-(Nc)₂) digunakan sebagai agen pengoksidasi kromogenik karena reduksi ion Cu(II) dapat diukur. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah. Metode pengukuran kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode CUPRAC memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan metode pengukuran antioksidan yang lain yaitu reagen CUPRAC cukup cepat untuk mengoksidasi tiol jenis antioksidan, pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi selektif karena potensi redoksnya lebih rendah. Reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat diakses dari reagen kromogenik lainnya (mis., ABTS, DPPH). Metode ini mudah dan berlaku dilaboratorium konvensional menggunakan standar kolorimeters tidak

peralatan memerlukan canggih dan operator yang memenuhi syarat. Metode ini dapat mengukur hidrofilik dan lipofilik dari antioksidan (misalnya, α -karoten dan α -tokoferol) (Apak *et al.*, 2007). Berdasarkan kajian diatas, perlu dilakukan penelitian untuk menganalisis aktivitas antioksidan daun yodium (*Jatropha multifida* L.) dengan metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*).

II. MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

A. Material

Material yang digunakan meliputi batang pengaduk, cawan porselin, corong, eksikator, gelas arloji, gelas kimia (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), kamera, pinset, pipet tetes, pipet skala, rak tabung, sendok tanduk, seperangkat alat rotavapor, seperangkat alat maserasi, spektrofotometer Ultraviolet Visibel, tabung reaksi, dan timbangan analitik, sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah aluminium foil, aquadest, buffer amonium asetat, CuCl_2 , ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida* L.), etanol 96%, neocuproin dan tissue.

B. METODE

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan metode CUPRAC untuk membuktikan adanya aktivitas antioksidan daun yodium (*Jatropha multifida* L.) di Laboratorium Kimia Farmasi.

2. Populasi dan Sampel

Material yang digunakan adalah daun yodium (*Jatropha multifida* L.) yang diperoleh langsung dari Kecamatan Biringkanaya (Daya) Kota Makassar, Propinsi Sulawesi Selatan.

3. Cara Kerja

a. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel daun yodium (*Jatropha multifida* L.) dilakukan pada pagi hari sekitar pukul 08.00 - 10.00 WITA di kota Makassar, dengan cara mengambil daun tua atau muda (dekat pucuk) yang masih segar secara manual menggunakan tangan. Daun yang telah dipetik kemudian dikumpulkan, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan. Daun yodium kemudian

dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam. Daun yang sudah kering kemudian diserbukkan menggunakan blender.

b. Pembuatan ekstrak etanol daun yodium

Seratus lima puluh gram (150 gr) serbuk daun yodium dimaserasi menggunakan etanol 96% selama tiga hari, ditutup dan dibiarkan terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk. Setelah tiga hari sari diserkai, ampas diperas kemudian dilakukan remaserasi, diaduk dan diserkai. Kemudian wadah ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya selama tiga hari, setelah itu endapan dipisahkan. Ekstrak etanol kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

c. Penyiapan Larutan (Apak, *etal.*, 2007)

Larutan CuCl_2 $1,0 \times 10^{-2}$ M dibuat dengan melarutkan 0,4262 gram $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam air dan diencerkan sampai 250 mL. Buffer ammonium asetat pada pH 7 disiapkan dengan melarutkan 19,27 gram NH_4Ac dalam air dan diencerkan sampai 250 mL. Larutan *Neocuproine* (Nc) $7,5 \times 10^{-3}$ M, disiapkan dengan melarutkan 0,039 gram Nc dalam etanol 96% dan diencerkan sampai 25 mL dengan etanol 96%.

d. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC (Widyastuti, *et al.* 2010)

Dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 1 mL larutan CuCl_2 ($1,0 \times 10^{-2}$ M), 1 mL larutan neocuproin ($7,5 \times 10^{-3}$ M) dan 1 mL larutan penyangga NH_4Ac pH 7 dan campurkan 0,5 mL ekstrak tanaman (sebelumnya dilarutkan dengan etanol 96% dengan volume perbandingan 0,3:20) kemudian cukupkan volume dengan menambahkan 0,6 mL aquadest (volume total = 4.1 mL) dan campuran dalam tabung reaksi ditutup. Kemudian larutan didiamkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada 450 nm.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan

Sampel	Uji aktivitas antioksidan				Hasil Pengamatan
	-CuCl ₂	-Ne	+ Buffer Amonium Asetat	+ H ₂ O	
EDDY	Hijau toska	Merah Violet	Kuning coklat	Kuning coklat	

Keterangan: (+) = Kemampuan reduksi kuat/rendah

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi ekstrak etanol daun yodium (*Jatropha multifida* L.) pada panjang gelombang 450 nm

Sampel	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	
EDDY	0.751	0.724	0.664	0.705

B. Pembahasan

Metode Cuprac (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) adalah salah satu metode yang digunakan untuk menentukan adanya aktivitas dan mengukur kapasitas antioksidan dari daun yodium terhadap radikal bebas yang absorbansinya diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 450 nm.

Penetapan aktivitas antioksidan dari tanaman menggunakan metode Cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) karena pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif, yang memiliki nilai potensial reduksi yang rendah. metode ini memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan metode pengukuran antioksidan yang lain yaitu reagen *Cupric ion reducing antioxidant capacity* (CUPRAC) cukup cepat untuk mengoksidasi tiol jenis antioksidan, pereaksi *Cupric ion reducing antioxidant capacity* (CUPRAC) juga merupakan pereaksi selektif karena potensi

redoksnya lebih rendah. Reagen *Cupric ion reducing antioxidant capacity* (CUPRAC) lebih stabil dan dapat diakses dari reagen kromogenik lainnya (mis. ABTS, DPPH). Metode ini mudah dan berlaku dilaboratorium konvensional menggunakan standar kolorimeters tidak memerlukan peralatan canggih dan operator yang memenuhi syarat. Metode ini dapat mengukur hidrofilik dan lipofilik dari antioksidan misalnya, -karoten dan - tokoferol (Apak *et al*, 2007).

Secara kualitatif ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida* L.) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan adanya perubahan pada saat penambahan 1 mL CuCl₂ terjadi perubahan warna campuran larutan yang awalnya berwarna hijau pekat menjadi hijau toska, kemudian ditambah 1 mL Neocuproin pada saat penambahan juga terjadi perubahan warna pada campuran larutan menjadi warna merah violet, selanjutnya ditambahkan 1 mL buffer amonium asetat (NH₄Ac) pH 7 yang memberikan perubahan warna pada campuran larutan menjadi warna kuning coklat.

Perubahan warna pada saat penambahan pelarut yang dapat dilihat secara visual ini sesuai dengan teori yang menyatakan secara visual perubahan warna dapat dilihat dari perubahan warna kompleks larutan hal ini dikarenakan CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif yang memiliki nilai potensial reduksi yang rendah, yaitu sebesar 0,17 V (Apak *et al*, 2007).

Pengukuran aktivitas antioksidan, sampel ditimbang sebanyak 0,3 gr dilarutkan dalam 20 mL etanol 96% kemudian dipipet 0.5 mL larutan sampel tersebut dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya, dimasukkan kedalam tabung reaksi 1 mL larutan CuCl₂ 0.01 M, kemudian ditambahkan 1 mL Neocuproin (7,5 x 10⁻³ M), ditambahkan 1 mL buffer amonium asetat (NH₄Ac) pH 7 dan kemudian dicukupkan volumenya dengan penambahan aquadest sebanyak 0,6 mL sehingga volume total dari campuran 4,1 mL. Setelah itu larutan didiamkan selama 30 menit dan diukur absorbansi larutan pada serapan maksimum 450 nm yang dilakukan sebanyak tiga kali replikasi terhadap ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida*

L.) dengan spektrofotometri UV-Vis. Setelah didapatkan absorbansi dari sampel kemudian dilakukan penghitungan nilai Asam Askorbat Equivalen (AAE). Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini ditentukan berdasarkan penentuan absorbansi sampel dengan tiga kali replikasi ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida* L.). Replikasi pertama yaitu 0,753 nm, replikasi kedua yaitu 0,724 nm dan replikasi ketiga yaitu 0,864 nm dengan menggunakan nilai asam askorbat equivalen (AAE) dan menghitung standar deviasi dari sampel, hal ini dilakukan untuk melihat perbedaan data. Hasil penelitian analisis pengukuran sampel menunjukkan ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida* L.) memiliki kapasitas antioksidan dengan nilai AAE sebesar $0,7385 \pm 0,0521$ mg L-1 AA g-1 ekstrak.

Dari data nilai AAE yang diperoleh dari sampel yang dibandingkan dengan nilai standar deviasi menunjukkan perbedaan yang tidak terlalu besar.

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil analisis kualitatif dari ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida* L.) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada sampel dengan nilai Asam Askorbat Equivalen (AAE) ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida* L.) yaitu $0,7385 \pm 0,0521$ mg L-1 AA g-1 ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Apak, R. Kubilay, G. Mustafa, O. and Saliha E.C., 2007. *Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. Molecules* 2007.
2. Depkes RI. (2000). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid 1*. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan penelitian dan pengembangan Kesehatan. Jakarta.
3. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI : Jakarta.
4. Gandjar, I.G., dan Rohman. 2007. *Kimia Analisis Farmasi*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
5. Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI-Press. Jakarta.
6. Mustafa, O. Mustafa, B. and Kubilay, G. 2011. *Evaluation of Antioxidant Activity of Creataegus Species Collected From Different Regions of Turkey*. Vol 6. No 3.
7. Rininta, N. 2008. *KLT AUTOGRAFI CUPRAC sebagai teknik cepat pendeteksian senyawa antioksidan. Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
8. Subeki. 1998. *Pengaruh cara pemasakan terhadap kandungan antioksidan Beberapa macam sayuran serta daya serap dan retensinya pada tikus percobaan. Tesis*. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
9. Sudjadi. 2010. *Kimia Analisis Farmasi*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
10. Winarsi, H. 2007. *Antioksidan alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
11. Widyastuti, N. 2010. *Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta kolerasinya dengan fenol dan flavonoid pada enam tanaman*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.